

# モルヒネ誘発性便秘症は、セロトニンの分泌亢進を介した大腸AQP3の発現増加により発症する

著者	今 理紗子
雑誌名	星薬科大学紀要
号	57
ページ	19-24
発行年	2015-12-10
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1240/00000785/">http://id.nii.ac.jp/1240/00000785/</a>

## モルヒネ誘発性便秘症は、セロトニンの分泌亢進を介した大腸 AQP3 の発現増加により発症する

今 理紗子

星薬科大学 薬動学教室

### Morphine-induced constipation develops with increased aquaporin-3 expression in the colon via increased serotonin secretion

Risako KON

*Department of Clinical Pharmacokinetics, Hoshi University*

#### はじめに

モルヒネは、がん性疼痛などに用いられている麻薬性鎮痛薬である。モルヒネは、強力な鎮痛作用を有することに加え、様々な剤型があることから、痛み治療の第一選択薬となっている。モルヒネの鎮痛作用は、中枢のオピオイドμ受容体を介して発現する。しかしながら、オピオイド受容体は、中枢だけではなく、末梢にも発現しているため、モルヒネ服用患者には末梢のオピオイド受容体を介した様々な副作用が現れる。モルヒネの副作用の中で、臨床において最も深刻なものは便秘である<sup>1)</sup>。モルヒネによる便秘は、鎮痛用量以下で発生することから、ほとんどすべてのモルヒネ服用患者に生じる。また、モルヒネによる便秘は耐性ができにくく、放置しておくとう重化し、腸閉塞などの重大な合併症を誘発する場合もある<sup>2, 3)</sup>。このように、便秘は患者のQOLの低下を招くばかりではなく、モルヒネの継続投与が困難となる場合もあるため、モルヒネ服用と同時に十分な対策を行う必要がある。

現在、モルヒネによる便秘症患者には対症療法として、浸透圧性下剤や大腸刺激性下剤などの瀉下剤が経験的に使用されている。しかしながら、現存の瀉下剤を駆使しても治療が困難である場合も多い<sup>4, 5)</sup>。その理由は、これまでモルヒネによる便秘は、腸の蠕動運動が抑制されることにより発症するものと考えられてきたが、その他のメカニズムについてはほとんどわかっていなかったためである。したがって、モルヒネ誘発性便秘症の発症要因を把握し、その全容を解明することは、単にモルヒネの副作用を軽減するにとどまらず、新規メカニズムを有する下剤の開発や、便秘に対するこれまでにない治療方法や予防方法を提案する上で、非常に重要となる。

一方、近年、腸管における水の移動に、水チャネルであるアクアポリン (aquaporins; AQP) が関与してい

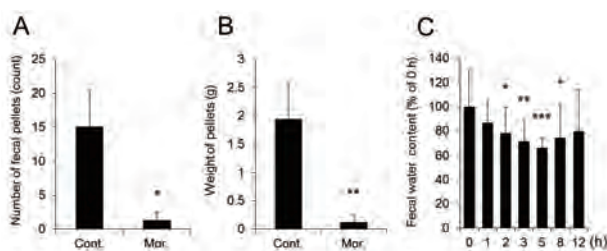
ることが明らかになってきた。AQPはヒトにおいて、様々な臓器に発現しており、現在 AQP0 から AQP12 までの 13 種類の AQP が同定されている。腸管にも多数の AQP が発現しており、特に、大腸粘膜上皮細胞においては、AQP3 が優位に発現している。我々はこれまでに、大腸の AQP3 の機能や発現が低下すると、腸管側から血管側への水の吸収が抑制され、下痢が発症することを明らかにした<sup>6-9)</sup>。この知見は、大腸の AQP3 が便の水分調節に重要な役割を担っていることを示すものである。

本研究では、大腸 AQP3 に着目し、モルヒネ誘発性便秘症における大腸 AQP3 の役割およびその発現変動メカニズムについて解明することにより、便秘症の新規治療法および薬物の適正使用の提案を試みた。

#### 1. モルヒネを経口投与した際の糞中水分量および大腸AQP3 の発現量の変化

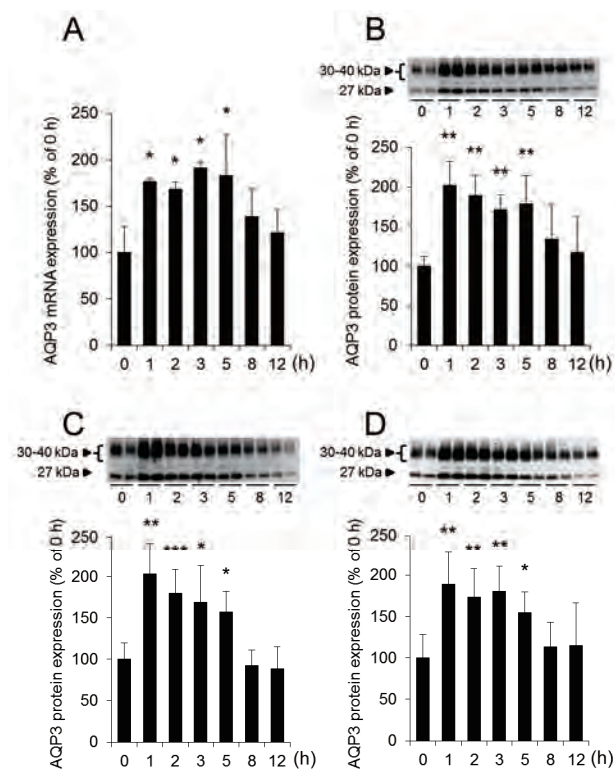
ラットにモルヒネを経口投与し、12 時間後までの排便総重量、排便回数および糞中水分量を調べることで、便秘の程度を評価した。モルヒネ投与後の排便回数はコントロール群と比べて有意に低下し、これに伴い、排便総重量も著明に低下した (Fig. 1A および 1B)。また、モルヒネ投与後の糞中水分量は、投与 1 時間後から低下し始め、投与 5 時間後ではコントロール群 (0 h) の約 60% であり、最も低値を示した (Fig. 1C)。これらのことから、ラットにモルヒネを投与することにより便秘が発症することが確認できた。

大腸においては AQP3 が粘膜上皮細胞に優位に発現しており、便の水分調節に重要な役割を担っている。そこで、モルヒネを経口投与した際の大腸における AQP3 の発現量を解析した。大腸 AQP3 の mRNA 発現量は、モルヒネ投与 1 時間後から有意に増加し、投与 5 時間後においても、投与前と比べて約 2 倍高い値を示して



**Fig. 1. Effects of morphine on the constipation score and fecal water content**

Rat fecal samples were collected for up to 12 h after morphine administration. The number of fecal pellets (A), the weight of pellets (B), and the fecal water content (C) were measured. The mean fecal water content immediately after administration (0 h) was indicated as 100%. Data represent means  $\pm$  SDs for six rats. Student's *t*-test or Dunnett's test: \**p*<0.05, \*\**p*<0.01, and \*\*\**p*<0.001 vs. Control or 0 h.



**Fig. 2. Effect of morphine on AQP3 expression level in rat colon**

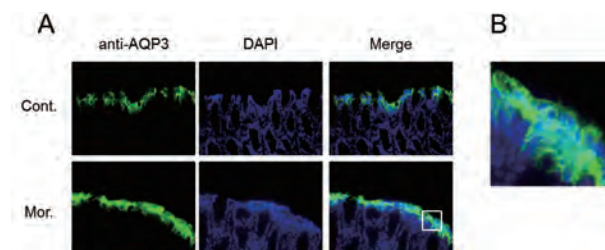
Rat colons were harvested for up to 12 h, beginning immediately after morphine administration.

A: The mRNA expression levels of AQP3 were measured using real-time RT-PCR, and normalized to 18S rRNA. B-D: The CM (B), PM (C), and IV (D) fractions were prepared, and the protein expression levels of AQP3 were analyzed using western blotting.

Mean levels of AQP3 mRNA and protein expression immediately after administration (0 h) were indicated as 100%. Data represent means  $\pm$  SDs for six rats. Dunnett's test: \**p*<0.05, \*\**p*<0.01, and \*\*\**p*<0.001 vs. 0 h.

いた (Fig. 2A)。次に、摘出した大腸から細胞膜を豊富に含む PM (plasma membrane) 画分、小胞体膜を豊富に含む IV (intracellular vesicle) 画分およびこれらを合わせた細胞全体の膜を含む CM (crude membrane) 画分を調製し、それぞれの画分における AQP3 の発現量を解析した。大腸 CM 画分における AQP3 のタンパク質発現量は、モルヒネ投与 1 時間後から約 2 倍増加し、この増加は投与 5 時間後まで持続していた (Fig. 2B)。また、大腸 PM 画分および IV 画分における AQP3 のタンパク質発現量についても、CM 画分と同様の挙動を示した (Fig. 2C および 2D)。加えて、モルヒネによる大腸 AQP3 の発現増加は、大腸粘膜上皮細胞の apical 側および basal 側の両部位において見られた (Fig. 3)。

以上のことから、モルヒネにより便秘が発症した際には、大腸 AQP3 の発現量が増加することがわかった。



**Fig. 3. The distribution of AQP3 in rat colon after morphine administration**

Rat colons were removed 5 h after water (control) or morphine administration.

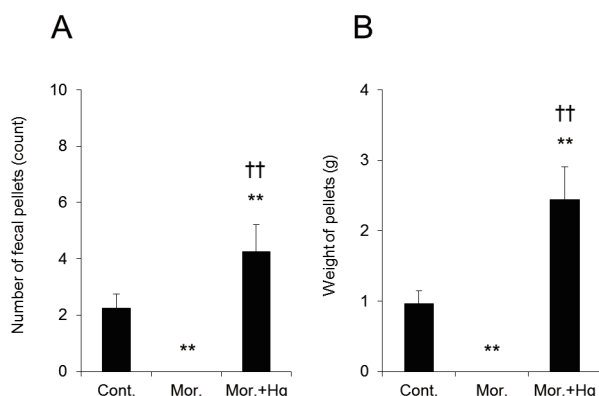
A: AQP3 (green) and nuclei (blue) were immunostained.

B: Enlarged view of AQP3 in rat colon epithelial cells.

## 2. モルヒネ誘発性便秘症に対する AQP3 機能阻害剤の改善効果

塩化水銀 ( $\text{HgCl}_2$ ) などの水銀化合物は *in vitro* 試験において、AQP3 の水の透過機能を阻害することが報告されている<sup>10, 11)</sup>。また、我々はこれまでに、AQP3 の水透過機能を約 70% 程度阻害する濃度の  $\text{HgCl}_2$  をラットに直腸内投与すると、腸管側から血管側への水の移動が阻害されるため、投与後 1 時間までに重度の下痢が発症することを明らかにしている<sup>8)</sup>。そこで、モルヒネによる便秘の発症に大腸の AQP3 の発現増加が関与しているかどうかを  $\text{HgCl}_2$  を用いて調べた。具体的には、モルヒネ投与 30 分後のラットに  $\text{HgCl}_2$  を直腸内投与し、モルヒネ投与直後から 1.5 時間後までの便秘の程度を調べた。その結果、モルヒネと  $\text{HgCl}_2$  を併用投与した際の排便回数および排便総重量は、いずれもモルヒネ単独投与群と比べて有意に増加していることがわかった (Fig. 4A および 4B)。

以上のことから、モルヒネによる便秘の発症には大腸 AQP3 の発現増加が関与していることがわかった。

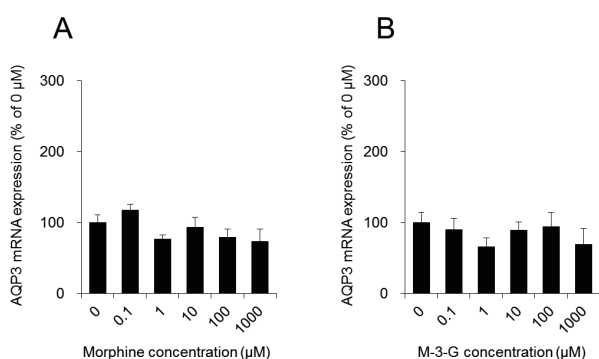


**Fig. 4. Changes in the morphine-induced constipation score by  $\text{HgCl}_2$  administration**

$\text{HgCl}_2$  or saline was administered intrarectally to rats 30 min after treatment with oral morphine. The number (A) and the weight (B) of fecal pellets were measured. The data represent the means  $\pm$  SDs for five rats. Tukey's test: \*\* $p < 0.01$  vs. Control. †† $p < 0.01$  vs. Morphine.

### 3. AQP3 の発現量に及ぼすモルヒネおよびモルヒネ代謝物の影響

経口投与されたモルヒネは、その大部分が肝臓の UGT (UDP-glucuronosyltransferase) によって、鎮痛作用をほとんど持たない M-3-G (morphine-3-glucuronide) と、強い鎮痛作用を持つ M-6-G (morphine-6-glucuronide) に代謝される。しかしながら、ラットにおいては、M-6-G はごくわずかしが生成



**Fig. 5. Effects of morphine and M-3-G on AQP3 mRNA expression in HT-29 cells**

HT-29 cells were treated with morphine (A) or M-3-G (B) for 3 h. AQP3 mRNA expression levels were measured using real-time RT-PCR, normalized to the GAPDH, and presented with the mean of the control cells set to 100%. AQP3 mRNA expression levels of the control cells did not change 3 h post-treatment with original growth medium. The data represent the means  $\pm$  SDs for five experiments.

されないことが知られている<sup>12, 13)</sup>。そこで本研究では、モルヒネあるいは M-3-G の大腸 AQP3 の発現に及ぼす影響をヒト結腸癌由来 HT-29 細胞を用いて調べた。HT-29 細胞は、ヒトの正常な大腸の生理状態を示すことから、AQP3 に関する研究に広く用いられている。

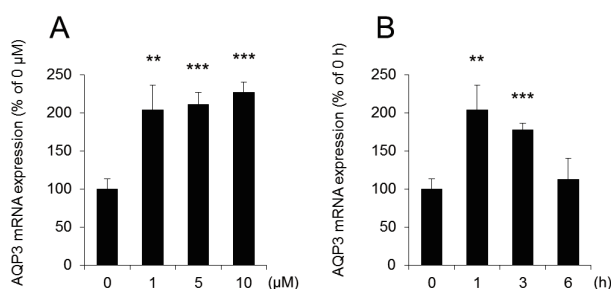
モルヒネによる便秘が発症している際の血中および腸管内の濃度に相当するモルヒネあるいは M-3-G を HT-29 細胞に添加し、AQP3 の mRNA 発現量を調べたところ、いずれの濃度においても添加 3 時間後まで変化は認められなかった (Fig. 5A および 5B)。

### 4. モルヒネ投与時の大腸における AQP3 の発現増加とセロトニンとの関係

モルヒネは、腸管壁からのセロトニンの遊離を促進させ、腸の蠕動運動を抑制することにより便秘を誘発させることが報告されている<sup>14, 15)</sup>。そこで、モルヒネ投与時の AQP3 の発現増加にもセロトニンが関与しているのではないかとの仮説を立て、その立証を試みた。

まず、セロトニンが大腸の AQP3 の発現を増加させるかどうかを *in vitro* 試験で調べた。HT-29 細胞にセロトニンを添加したところ、1  $\mu\text{M}$  以上の濃度で AQP3 の mRNA 発現量が増加することがわかった (Fig. 6A)。また、このセロトニンによる AQP3 の発現増加は、添加 1 時間後が最も高く、6 時間後においては、添加前とほぼ同レベルまで戻っていた (Fig. 6B)。このセロトニンによる AQP3 の mRNA の変化は、モルヒネ投与後の AQP3 の発現変化 (Fig. 2A) と類似していた。

消化管には、体内のセロトニンの約 95% が存在しており、その合成や貯蔵、分泌は腸内分泌細胞である EC 細胞が主役を担っている。一般に EC 細胞は、セロトニ



**Fig. 6. Effect of 5-HT on AQP3 mRNA expression in HT-29 cells**

HT-29 cells were treated with 5-HT (0-10  $\mu\text{M}$ ) for 1 h (A). HT-29 cells were treated with 5-HT (1  $\mu\text{M}$ ) for up to 6 h (B). The expression level of AQP3 mRNA was measured using real-time PCR, normalized to the GAPDH, and then presented with the mean of the control cells set to 100%. AQP3 mRNA expression levels of the control cells did not change 6 h post-treatment with original growth medium. The data represent the means  $\pm$  SDs for five experiments. Dunnett's test: \*\* $p < 0.01$  and \*\*\* $p < 0.001$  vs. 0  $\mu\text{M}$  or 0 h.



ンを分泌する際にその形態を球状から突起状に変化させることが知られている<sup>16)</sup>。そこで、AQP3 の著明な増加がみられたモルヒネ投与 1 時間後のラットの大腸において、セロトニン陽性 EC 細胞の局在およびその形態がどのように変化するかを免疫染色により調べた。コントロール群においては、セロトニン陽性 EC 細胞は大腸に散在しており、その多くは大腸粘膜固有層の陰窩に存在していた。それに対して、モルヒネ投与群のセロトニン陽性 EC 細胞は、陰窩よりも上層の粘膜層に多く存在していた。さらに、モルヒネ投与群の EC 細胞は、コントロール群でみられた球状の形態とは異なり、突起を伸ばすような形態に変化していた (Fig. 7)。

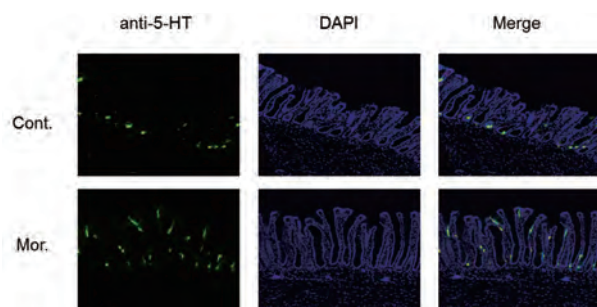


Fig. 7. The distribution of 5-HT-positive EC cells in rat colon after morphine administration

Rat colons were removed 1 h after water (control) or morphine administration. 5-HT-positive EC cells (green) and nuclei (blue) were immunostained.

## 5. セロトニンによる AQP3 発現増加メカニズムの解析

大腸にはセロトニン受容体やセロトニン選択的トランスポーター (serotonin reuptake transporter; SERT) が存在する。これらの阻害剤を用いて、セロトニンがどのようなメカニズムで AQP3 の発現を増加させたのかについて調べた。その結果、HT-29 細胞にセロトニン受容体アンタゴニスト (5-HT<sub>2</sub>; ketanserin, 5-HT<sub>3</sub>; Y-25130, 5-HT<sub>4</sub>; RS39604) を前処置しても、セロトニンによる AQP3 の発現増加には影響を及ぼさないことがわかった (Fig. 8A)。一方、SERT 阻害剤であるフルオキシセチンを前処置した際には、セロトニンによる AQP3 の発現増加がほぼ完全に抑制されることがわかった (Fig. 8B)。

セロトニンは SERT により細胞内に取り込まれると、核内受容体ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (peroxisome proliferator-activated receptor; PPAR) のリガンドとなることが報告されている<sup>17)</sup>。一方、PPAR は、リガンドが結合すると核内に移行し AQP3 の転写を亢進させることが報告されている<sup>18)</sup>。そこで、

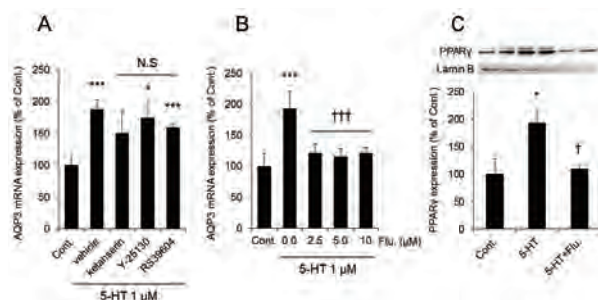


Fig. 8. Effects of 5-HT receptor or SERT inhibitor on AQP3 mRNA and PPAR expression in HT-29 cells

A: HT-29 cells were treated with ketanserin (5-HT<sub>2</sub> receptor antagonist), Y-25130 (5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist), or RS39604 (5-HT<sub>4</sub> receptor antagonist) for 1 h and then with 5-HT (1 μM) for an additional 1 h. AQP3 mRNA expression levels were measured using real-time RT-PCR and normalized to GAPDH.

B: HT-29 cells were treated with fluoxetine (SERT inhibitor) for 1 h and 5-HT (1 μM) for an additional 1 h. AQP3 mRNA expression levels were measured using real-time RT-PCR and normalized to GAPDH.

C: PPAR protein expression levels in nuclei were measured using western blotting and normalized to Lamin B levels.

AQP3 and PPAR expression levels were presented with the means of the control cells set to 100%. The data represent the means ± SDs for five experiments. Tukey's test: \*p<0.05 and \*\*\*p<0.001 vs. Control. †p<0.05 and †††p<0.001 vs. 5-HT.

HT-29 細胞にセロトニンを添加した際の PPAR の核内移行量を調べた。その結果、セロトニン添加 1 時間後において、PPAR の核内移行量は約 2 倍有意に増加していることがわかった。このセロトニンによる PPAR の核内移行は、フルオキシセチンで前処置することによりほぼ完全に抑制された (Fig. 8C)。

以上のことから、セロトニンは、SERT により細胞内に取り込まれた後、PPAR のリガンドとして機能し、PPAR の核内移行を亢進することにより AQP3 の発現を増加させることがわかった。

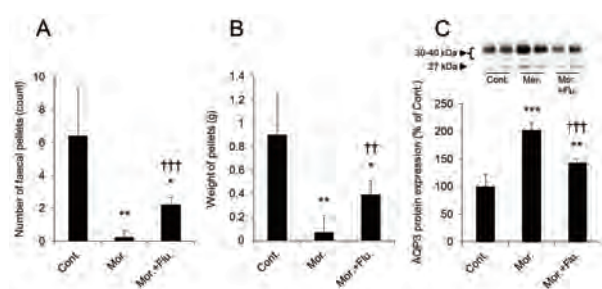
## 6. SERT 阻害剤併用時のモルヒネ誘発性便秘症の改善効果

SERT 阻害剤であるフルオキシセチンをラットに前処置することにより、モルヒネの便秘および大腸における AQP3 の発現増加が抑制されるかどうかを調べた。具体的には、ラットにフルオキシセチンを腹腔内投与し、投与 15 分後にモルヒネを経口投与した際の排便状況および大腸 AQP3 のタンパク質発現量を調べた。

モルヒネとフルオキシセチンを併用投与した際の排便回数および排便総重量は、モルヒネ単独投与群よりも増加

することがわかった。しかしながら、この増加値はコントロール群よりも低値であった (Fig. 9A および 9B)。一方、モルヒネ投与により 2 倍増加した大腸 PM 画分の AQP3 のタンパク質発現量は、フルオキサセチンの併用により約 30%低下した (Fig. 9C)。

以上のことから、SERT 阻害剤はモルヒネによる大腸 AQP3 の発現増加を抑制し、便秘を改善させ得ることがわかった。なお、フルオキサセチンの阻害率とモルヒネ誘発性便秘症の改善率との関係、およびモルヒネ誘発性便秘症の改善率と AQP3 の発現抑制率の関係については、一定の疑問が残り、これらの点に関しては今後の課題と考える。



**Fig. 9. Changes in the morphine-induced constipation score and the colon AQP3 protein expression by fluoxetine administration**

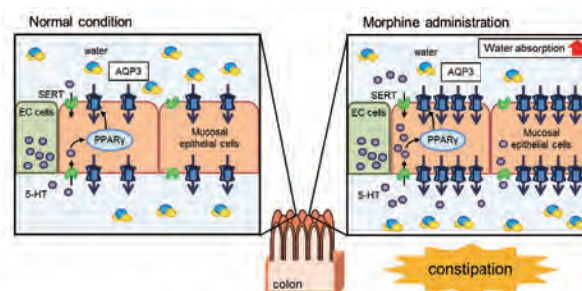
Saline or fluoxetine was administered intraperitoneally to rats 15 min after oral water or morphine administration. The number of fecal pellets (A) and the weight of pellets (B) were measured for up to 5 h after morphine administration. The colon was removed 5 h after morphine administration. AQP3 protein expression levels in the PM fraction were measured using western blotting (C). AQP3 protein expression levels were presented with the means of the control group as 100%. The data represent the means  $\pm$  SDs for five rats. Tukey's test: \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , and \*\*\* $p < 0.001$  vs. Control. †† $p < 0.01$  and ††† $p < 0.001$  vs. Morphine.

## おわりに

本研究の結果から、モルヒネは大腸における AQP3 の発現量を増加させることにより、腸管側から血管側への水の吸収を亢進し、便を硬化することによって便秘を引き起こしている可能性が示唆された。さらに、モルヒネによる AQP3 の発現増加には、EC 細胞から分泌されるセロトニンが関与していることがわかった。すなわち、EC 細胞から過剰分泌されたセロトニンが SERT を介して細胞内に取り込まれた後に、PPAR のリガンドとして機能し、AQP3 の転写を亢進させ、発現量を増加させたものと考えられた (Fig. 10)。

本研究の結果は、モルヒネによる便秘が蠕動運動の抑

制作用ばかりではなく、AQP3 の発現増加も伴って発症することを初めて示すものである。さらに、大腸の AQP3 の機能や発現を制御する物質がモルヒネ誘発性便秘症の新規治療薬になり得ることを示唆するものである。加えて、腸管でのセロトニンの作用を調節している SERT をターゲットにした薬物が、モルヒネ誘発性便秘症の治療や予防に有効である可能性を示している。今回、我々が見出した新しい知見は、新しい便秘の治療薬開発や治療法の提案においても重要なものとなるであろう。



**Fig. 10. The mechanism of morphine-induced constipation via AQP3 in rat colon**

## 謝辞

本研究を遂行するにあたり、平成 26 年度星薬科大学大谷記念研究奨励金を賜りましたことに対し、大谷卓男理事長ならびに田中隆治学長に厚く御礼申し上げます。また、本研究の遂行のために、多大なるご指導を賜りました星薬科大学薬動学教室の杉山清教授ならびに落合和准教授、五十嵐信智助教に心より御礼申し上げます。また、本研究を進めるなかで、ご支援、ご助言いただきました鈴木勉名誉教授に深く御礼申し上げます。最後に、本研究を進めるにあたり、多大なるご協力をいただきました薬動学教室の教室員の皆様に深謝いたします。

# 参考文献

- 1) Swegle JM, & Logemann C (2006). Management of common opioid-induced adverse effects. *Am Fam Physician* 74: 1347-1354.
- 2) Mercadante S, Villari P, Ferrera P, & Casuccio A (2006). Opioid-induced or pain relief-reduced symptoms in advanced cancer patients? *Eur J Pain* 10: 153-159.
- 3) Mancini I, & Bruera E (1998). Constipation in advanced cancer patients. *Support Care Cancer* 6: 356-364.
- 4) McNicol E, Horowicz-Mehler N, Fisk RA, Bennett K, Gialeli-Goudas M, Chew PW, et al. (2003). Management of opioid side effects in cancer-related and chronic noncancer pain: a systematic review. *J Pain* 4: 231-256.
- 5) Larkin PJ, Sykes NP, Centeno C, Ellershaw JE, Elsner F, Eugene B, et al. (2008). The management of constipation in palliative care: clinical practice recommendations. *Palliat Med* 22: 796-807.
- 6) Ikarashi N, Baba K, Ushiki T, Kon R, Mimura A, Toda T, et al. (2011a). The laxative effect of bisacodyl is attributable to decreased aquaporin-3 expression in the colon induced by increased PGE2 secretion from macrophages. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 301: G887-895.
- 7) Ikarashi N, Ushiki T, Mochizuki T, Toda T, Kudo T, Baba K, et al. (2011b). Effects of magnesium sulphate administration on aquaporin 3 in rat gastrointestinal tract. *Biol Pharm Bull* 34: 238-242.
- 8) Ikarashi N, Kon R, Iizasa T, Suzuki N, Hiruma R, Suenaga K, et al. (2012). Inhibition of aquaporin-3 water channel in the colon induces diarrhea. *Biol Pharm Bull* 35: 957-962.
- 9) Kon R, Ikarashi N, Nagoya C, Takayama T, Kusunoki Y, Ishii M, et al. (2014). Rheinanthrone, a metabolite of sennoside A, triggers macrophage activation to decrease aquaporin-3 expression in the colon, causing the laxative effect of rhubarb extract. *J Ethnopharmacol* 152: 190-200.
- 10) Ishibashi K, Sasaki S, Fushimi K, Uchida S, Kuwahara M, Saito H, et al. (1994). Molecular cloning and expression of a member of the aquaporin family with permeability to glycerol and urea in addition to water expressed at the basolateral membrane of kidney collecting duct cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 6269-6273.
- 11) Kuwahara M, Gu Y, Ishibashi K, Marumo F, & Sasaki S (1997). Mercury-sensitive residues and pore site in AQP3 water channel. *Biochemistry* 36: 13973-13978.
- 12) Yue Q, von Bahr C, Odar-Cederl?f I, & S?we J (1990). Glucuronidation of codeine and morphine in human liver and kidney microsomes: effect of inhibitors. *Pharmacol Toxicol* 66: 221-226.
- 13) Kuo CK, Hanioka N, Hoshikawa Y, Oguri K, & Yoshimura H (1991). Species difference of site-selective glucuronidation of morphine. *J Pharmacobiodyn* 14: 187-193.
- 14) Burks TF, & Long JP (1967). Release of intestinal 5-hydroxytryptamine by morphine and related agents. *J Pharmacol Exp Ther* 156: 267-276.
- 15) Burks TF (1973). Mediation by 5-hydroxytryptamine of morphine stimulant actions in dog intestine. *J Pharmacol Exp Ther* 185: 530-539.
- 16) Kuramoto H, Kadowaki M, Sakamoto H, Yuasa K, Todo A, & Shirai R (2007). Distinct morphology of serotonin-containing enterochromaffin (EC) cells in the rat distal colon. *Arch Histol Cytol* 70: 235-241.
- 17) Waku T, Shiraki T, Oyama T, Maebara K, Nakamori R, & Morikawa K (2010). The nuclear receptor PPAR individually responds to serotonin- and fatty acid-metabolites. *EMBO J* 29: 3395-3407.
- 18) Jiang YJ, Kim P, Lu YF, & Feingold KR (2011). PPARgamma activators stimulate aquaporin 3 expression in keratinocytes/epidermis. *Exp Dermatol* 20: 595-599.

Morphine-induced constipation develops with increased aquaporin-3  
expression in the colon via increased serotonin secretion

Risako KON

*Department of Clinical Pharmacokinetics, Hoshi University*

Aquaporin-3 (AQP3) is a water channel that is predominantly expressed in the colon, where it plays a critical role in the regulation of fecal water content. This study investigated the role of AQP3 in the colon in morphine-induced constipation. AQP3 expression levels in rat colon were increased during morphine-induced constipation. The combination of HgCl<sub>2</sub> and morphine improved morphine-induced constipation. Treatment with 5-HT in HT-29 cells significantly increased the AQP3 expression level and the nuclear translocation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR  $\gamma$ ) 1 h after treatment. Pretreatment with fluoxetine significantly suppressed these increases. Fluoxetine pretreatment suppressed the development of morphine-induced constipation and the associated increase in AQP3 expression in the colon. The results suggest that morphine increases the AQP3 expression level in the colon, which promotes water absorption from the luminal side to the vascular side and causes constipation. This study also showed that morphine-induced 5-HT secreted from the colon was taken into cells by SERT and activated PPAR  $\gamma$ , which subsequently increased AQP3 expression levels.